

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.29.008

兔实验性肝性脑病 ^1H 磁共振波谱初步研究*

张铁成 付 旷[△] 郭丽丽 赵桂娇 周 丽

(哈尔滨医科大学附属第二医院 磁共振成像诊断科 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要 目的:研究兔实验性肝性脑病 ^1H 磁共振波谱(magnetic resonance spectroscopy, MRS)变化。**方法:**将 24 只兔子随机分三组:对照组,肝硬化组,肝性脑病组,各 8 只。肝性脑病组采用四氯化碳(CCl_4)联合内毒素方法制作肝性脑病兔子模型,肝硬化组采用 CCl_4 制作肝硬化模型。分别在第 4、6、8、10、12 周取肝脏病理活检,第 12 周测量血氨值,并进行兔子脑组织的 MRS 扫描。计算 N-乙酰天门冬氨酸(N-acetyl aspartate, NAA)、肌酸(creatine, Cr)、胆碱(choline, Cho)、肌醇(myo-inositol, mI)和谷氨酰胺复合物(glutamine and glutamate, Glx)的峰下面积,计算 NAA/Cr、Cho/Cr、mI/Cr、Glx/Cr。**结果:**与对照组及肝硬化组相比,肝性脑病组血氨上升,脑部 MRS 显示 Glx/Cr 升高,Cho/Cr 降低,差异显著($P<0.05$)。与对照组相比,肝硬化组血氨以及 MRS 改变无统计学意义。**结论:**兔实验性肝性脑病 ^1H 磁共振波谱存在变化。

关键词:肝性脑病; ^1H 磁共振波谱;兔

中图分类号:Q95-3;R575.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)29-5633-04

Preliminary Study of ^1H -Magnetic Resonance Spectroscopy in Rabbit Model of Hepatic Encephalopathy*

ZHANG Tie-cheng, FU Kuang[△], GUO Li-li, ZHAO Gui-jiao, ZHOU Li

(MRI Division, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the change of brain MRS in rabbits model of hepatic encephalopathy. **Methods:** 24 experimental rabbits were randomly divided into three groups: control group, cirrhosis group and hepatic encephalopathy group, with 8 rabbits in each group ($n=8$). In hepatic encephalopathy group CCl_4 combining with endotoxin were used to produce the rabbit model of hepatic encephalopathy, whereas CCl_4 was used to get the rabbit model of hepatic cirrhosis in cirrhosis group. Pathological changes of rabbit livers of cirrhosis group and hepatic encephalopathy group were pathologically confirmed by liver biopsy under the ultrasonic guidance in the fourth, sixth, eighth, tenth, and twelfth week separately. The values of blood ammonia were measured in the twelfth week and meanwhile the magnetic resonance spectroscopy scans of rabbit brains were performed by using stimulated echo acquisition mode spectroscopy sequences. Then area under peaks of each metabolite, including NAA, Cr, Cho, mI, Glx and their ratios to Cr (NAA/Cr, Cho/Cr, mI/Cr, Glx/Cr) were computed and compared with the control group. **Result:** Comparing the control group with the cirrhosis group, the blood ammonia values of rabbits raised in hepatic encephalopathy group, meantime the brain MRS results of rabbits showed significantly increased Glx/Cr and significantly decreased Cho/Cr ($P<0.05$). **Conclusion:** Compared with control group and cirrhosis group, there exist changes in the brain MRS results in rabbits of hepatic encephalopathy group.

Key words: Hepatic encephalopathy; ^1H -Magnetic resonance spectroscopy; Rabbit

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R575.3 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2014)29-5633-04

前言

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)是一种继发于肝硬化和其他严重肝病的可逆的神经精神综合征^[1]。HE 分为三型:急性肝衰竭相关的 HE,门-体分流相关的 HE,在慢性肝病和肝硬化基础上发生的 HE,3 型又分为发作性、持续性以及轻微性(minimal hepatic encephalopathy, MHE)3 种不同亚型^[2]。轻微性肝性脑病是指临床上无明显肝性脑病相关症状肝和生化异常,但用精细的智力试验或神经电生理检查可见智力、神经、精

神异常而诊断的肝性脑病^[3]。我国是肝病大国,有大量的肝炎、肝硬化患者,据有关报道肝硬化患者中 22%-74% 都合并有 MHE^[4],虽然 MHE 没有典型的临床症状,但是 MHE 患者的应变能力,反应的水平都低于常人,在从事一些精细操作的工作时会存在一些问题,并且在没得到及时有效的治疗情况下,会进一步发展为症状性 HE^[5-6]。所以对于尽早的诊断 MHE 至关重要。现在对于 MHE 诊断主要应用神经心理学测试等手段,但其结果受到患者教育水平、年龄、疲劳等一些其它因素的影响,有时缺乏客观性^[7,8]。磁共振波谱(magnetic resonance spec-

* 基金项目:黑龙江省自然基金面上项目(10629B-267)

作者简介:张铁成(1984-),男,硕士研究生,医师,主要研究方向:磁共振成像诊断, E-mail:552840700@qq.com

[△] 通讯作者:付旷,男,主任医师,电话:0451-86297477, E-mail:fukuang4858637@163.com

(收稿日期:2014-04-05 接受日期:2014-04-28)

troscopy, MRS)是一种无创的,客观的检查方法,可以检测脑部的代谢变化。肝性脑病的患者脑内典型的代谢变化是,肌醇(myo-inositol, mI)及胆碱(choline, Cho)降低、谷氨酰胺复合物(glutamine and glutamate, Glx)升高、N-乙酰天门冬氨酸(N-acetyl aspartate, NAA)变化不明显^[9-12]。MRS可以利用这点,通过检测脑内代谢物的改变来进行诊断。本研究的目的是对比正常兔子脑 MRS 与利用四氯化碳(CCl₄)联合内毒素方法建立的肝性脑病模型的脑 MRS 是否存在变化。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

24 只 3 个月龄新西兰大白兔(由哈尔滨医科大学附属第二医院动物实验中心提供),体重 2-3 kg,健康,在标准的动物房中饲养,自由进食水。橄榄油(上海佳格食品有限公司);CCl₄(北京化学试剂公司);内毒素(上海第二军医大学微生物教研室研制);麻醉药:陆眠宁 II (吉林省华牧动物保健品有限公司);酚磺乙胺注射液(天津药业集团新郑股份有限公司);注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠(哈药集团制药总厂)。

1.2 方法

将 24 只兔子随机分为三组, I 组:8 只,作为正常对照组,给予皮下注射橄榄油,每周 2 次,前 2 周剂量为 0.3 mL/kg,后 8 周为 0.4 mL/kg,共注射 10 周,第 11 周耳缘静脉注射生理盐水 1 mL/kg; II 组:8 只,肝硬化组,给予皮下注射用橄榄油稀释的 50% 的 CCl₄ 溶液。每周 2 次,前 2 周剂量为 0.3 mL/kg,后 8 周为 0.4 mL/kg,共注射 10 周,第 11 周耳缘静脉注射生理盐水 1 mL/kg。III 组:8 只,肝性脑病组,制作肝性脑病模型,给予皮下注射用橄榄油稀释的 50% 的 CCl₄ 溶液。每周 2 次,前 2 周剂量为 0.3 mL/kg,后 8 周为 0.4 mL/kg,共注射 10 周,第 11 周耳缘静脉注射内毒素 10 μg/kg,将内毒素配置成 10 μg/ml 的生理盐水溶液。第 12 周末,于心脏采集兔血 5 mL,装入试管放入冰水中,送检,采用谷氨酸脱氢酶测定法,使用 Siemens Healthcare Diagnostics Inc 公司的 Dimension RxL Max 型全自动生化分析仪测量血氨值。第 4、6、8、10 随机在各组中抽取两只兔子,进行麻醉后,在超声引导下取兔子肝脏组织进行活检,并在取活检后给予消炎药及止血药。第 12 周末处死兔子,取肝脏组织进行病理检查。

1.3 波谱采集

于第 12 周末,进行兔子脑部磁共振检查。首先,使用陆眠宁 II 按 0.3 mL/kg 剂量将兔子麻醉,保证兔子状态稳定后,采用 Achieva 3.0T MR 机(荷兰飞利浦)进行兔子脑常规 MRI 扫描,兔子采取头先进,俯卧位,8 通道线圈。扫描序列包括冠状面 T2WI TSE 序列 (TR/TE = 3000/80 ms, 翻转角 90°, FOV80

mm, 层厚 3 mm, 层数 16) 及 T1WI FFE 序列 (450/10.9 ms, 翻转角 90°, FOV80 mm, 层厚 3 mm, 层数 16), 层面垂直于兔脑长轴方向。矢状面 T1WI FFE (TR/TE = 450/10.9 ms, 翻转角 90°, FOV80 mm, 层厚 3 mm, 层数 16), 层面平行于兔脑长轴方向。横断面 T1WI FFE (TR/TE = 450/10.9 ms, 翻转角 90°, FOV80 mm, 层厚 3 mm, 层数 20) 层面平行于兔脑长轴方向, 观察是否存在异常并作为定位像。采用单体素氢质子波谱-激励回波采集 (stimulated echo acquisition mode spectroscopy, STEAM) 序列, 进行脑部的 1H-MRS 扫描, TR/TE = 2000/9.53 ms, 翻转角 90°, 平均采集次数 128 次, 扫描时间 4 分 25 秒, 体素大小为 1 cm × 1 cm × 1 cm, 定位于兔子大脑, 尽量避免颅骨。在 VOI 内进行匀场, 使水峰的半高全宽小于 8 Hz, 同时确定水的共振频率, 将水的共振频率输入化学位移选择序列, 然后通过改变序列中的脉冲激励角度以获得最佳的抑水效果, 在此基础上用 STEAM 序列进行波谱数据的采集。扫描完成以后, 用机器自带的软件完成基线校准、信号平均、代谢物识别并计算各代谢物波峰曲线下的面积, 计算出以肌酸(Cr)为参照的各代谢物曲线下面积的比值, 即 NAA/Cr、Cho/Cr、mI/Cr 和 Glx/Cr。

1.4 统计学分析

利用方差分析比较肝硬化组, 肝性脑病组与对照组的血氨值和脑内代谢物的比值。使用 SPSS13.0 软件进行统计学处理, P < 0.05 有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状况

肝硬化组与肝性脑病组兔子在注射 CCl₄ 之后食量开始减少, 毛发蓬乱, 活动时间减少, 精神萎靡, 体重开始减轻。正常对照组兔子活动正常, 毛发有光泽, 饮食正常, 精神状况良好, 体重增加, 无死亡。肝性脑病组注射内毒素后兔子明显的精神萎靡, 呆滞, 厌食, 活动减少, 捕捉反应以及疼痛反应迟钝, 眼球震颤, 甚至出现昏迷。

2.2 兔子肝脏活检

两周之内有 3 只兔子死亡, 取死亡的兔子肝脏组织作病理, HE 染色发现肝脏内大量的肝细胞发生变性坏死, 并且有大量的炎性细胞浸润, 这几只兔子死于急性的肝损伤 (如图 1A)。在第 4 周起每隔两周, 在三组中各自随机抽取两只兔子在超声引导下进行穿刺活检。肝硬化及肝性脑病组的兔子, 在第 4 周穿刺图片显示中央静脉周围的肝细胞可见点、片状坏死。第 6 周时, 可见肝细胞肿胀, 汇管区可见炎性细胞浸润, 有少量的纤维增生, 界板处可见纤维增多 (如图 1B)。第 8-10 周时坏死的细胞更加广泛, 最终形成假小叶。第 12 周末肝脏形成肝硬化改变 (如图 1C)。

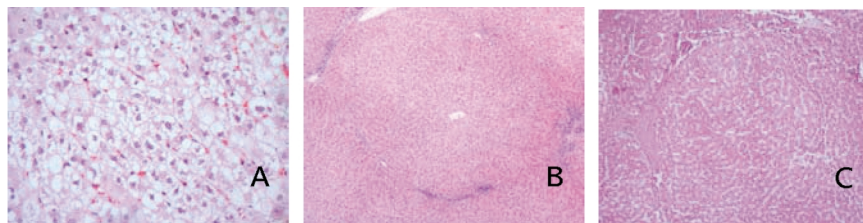


图 1 急性肝炎 400× (A)、轻度肝硬化 40× (B)、肝硬化 100× (C)

Fig.1 Acute hepatitis 400× (A), Mild cirrhosis 40× (B), cirrhosis 100× (C)

2.3 血氨测定及脑磁共振波谱

肝性脑病组兔子与对照组及肝硬化组相比,血氨值升高,有显著差异($P<0.05$)。肝硬化组与对照组比较,血氨升高,但无统计学差异(如表1)。肝性脑病组兔子与正常对照组及肝硬化组比较,Cho/Cr 比值降低、Glx/Cr 比值增高,有显著差异($P<$

0.05)。ml/Cr 比值未见显著差异。肝硬化组与对照组比较,脑内代谢物 Cho/Cr 比值略降低、Glx/Cr 比值略增高,ml/Cr 比值未见显著异常,但都无统计学意义(如表1)。肝性脑病组,肝硬化组脑部磁共振常规扫描图像未见显著异常信号。

表1 对照组、肝硬化组和肝性脑病组兔子血氨及脑内代谢物水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 rabbit blood ammonia and metabolites level of rabbit brain in control, cirrhosis and HE group($\bar{x} \pm s$)

	Hepatic encephalopathy	Cirrhosis	Controls	F value	P value
Glx/Cr	0.703 $\pm$ 0.029*	0.364 $\pm$ 0.012	0.332 $\pm$ 0.013	701.212	<0.001
ml/Cr	0.881 $\pm$ 0.104	0.767 $\pm$ 0.086	0.760 $\pm$ 0.093	3.191	0.068
Cho/Cr	1.016 $\pm$ 0.064*	1.391 $\pm$ 0.081	1.423 $\pm$ 0.069	60.261	<0.001
ammonia	94.0 $\pm$ 5.7*	43.7 $\pm$ 5.3	39.5 $\pm$ 4.6	191.407	<0.001

注 * 代表肝性脑病组与对照组以及肝硬化组比较有显著差异。

Note: * suggests compared with cirrhosis and health controls, HE group has significant difference.

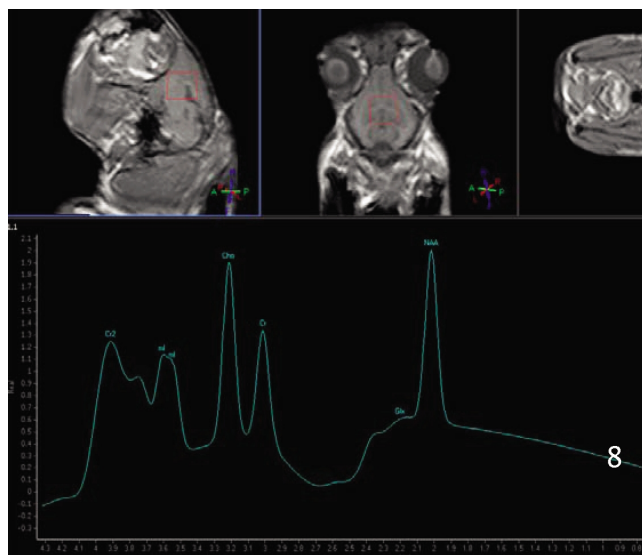


图2 正常对照组兔子脑部 1H-MRS 表现

Fig.2 ^1H magnetic resonance spectroscopy imaging performance of rabbit brain in control group

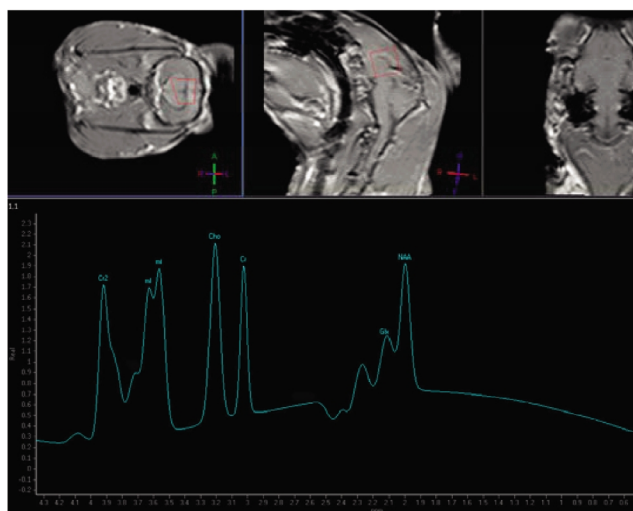


图4 肝性脑病组兔子脑部 1H-MRS 显示 Glx 峰增高,Cho 峰降低

Fig.4 ^1H magnetic resonance imaging of rabbit brain shows a increase in Glx and decrease in Cho in hepatic encephalopathy group

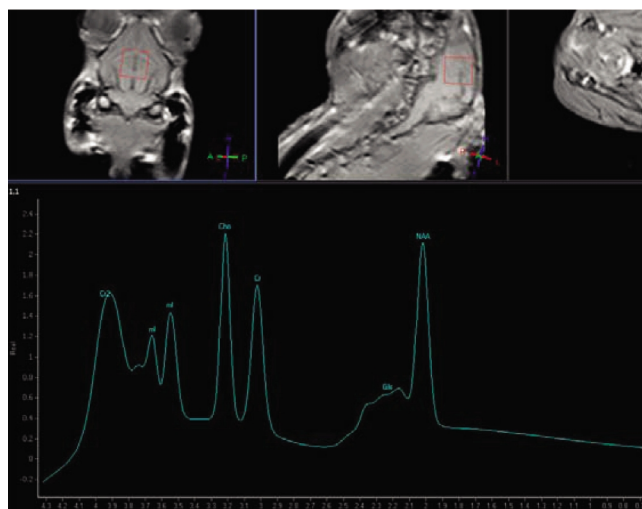


图 32 肝硬化组兔子脑部 1H-MRS 显示代谢产物无明显变化

Fig.3 ^1H magnetic resonance imaging of rabbit brain shows no significant metabolite changes in cirrhosis group

3 讨论

本实验选用 CCl_4 联合内毒素的方法制作慢性肝衰竭性 HE 的兔子模型,在第 11 周,肝性脑病组兔子在静脉注射内毒素后表现为明显的精神萎靡,呆滞,厌食,活动减少,捕捉反应以及疼痛反应迟钝。第 12 周末兔子肝脏病理切片证实肝硬化组及肝性脑病组兔子形成肝硬化。通过行为表现及肝脏病理认为肝性脑病组已出现 HE。

3.1 血氨的变化

在肝性脑病患者中,高血氨是引起大脑功能紊乱的主要因素之一。Rao KV^[13]等研究发现脑内血氨浓度升高时,氨可以通过干扰大脑能量代谢的若干位点,引起神经系统能量代谢的紊乱,从而导致肝性脑病的发生。同时,氨的堆积会影响神经细胞的渗透平衡,从而导致神经细胞水肿^[14]。另外,高氨血症还能影响星形胶质细胞基因表达,如水通道蛋白-4(aquaporin-4, AQP4)^[15]、葡萄糖转运体-1(glucose transporter-1, GLUT-1)^[16]、甘氨酸转运体-1(glycine transporter type-1, GLYT-1)和谷氨酸转

运体(excitatory amino acid transporter-2, EAAT-2)^[17]等。本实验中,在第12周末抽取兔子血液进行检测,肝硬化组与正常对照组相比血氨有上升的趋势,但并没有统计学意义。肝性脑病组血氨可以看到有显著的增高,几乎达到对照组的两倍以上。同样是肝硬化,在没有引起高氨血症的情况下兔子并没有形成肝性脑病,也在一定程度上说明血氨增高是引起肝性脑病的一个重要原因。由于血氨检测大约需要5 mL血液,在兔耳中央动脉和耳缘静脉采血时,由于血管较细,一般无法一次取到足够量的血,需要分多次采取,从而导致取血时间较长,在之前的尝试中,采集的血液由于时间较长血液已经凝固,无法检测,所以在本次实验过程中,由于兔子取血的实际操作难度,并没有在实验过程中取血,测量血氨的变化。而是在实验最后,在兔子心脏和动脉内抽取血液进行检测,并将三组兔子血氨值进行比较。这也是本实验的一个不足,并没有动态的观察兔子的血氨变化,对于肝性脑病模型兔子何时血氨出现明显变化,以及血氨变化与兔子症状是否存在一致性等一些问题,有待于进一步研究。

3.2 常规磁共振

在人体上,大多数肝性脑病患者的MRI图像在T1WI可见苍白球与部分内囊结构的双侧对称性高信号,部分在尾状核、黑质、中脑被盖以及垂体也可显示,T2WI无异常信号^[18],这些高信号和肝功能衰竭的程度和门腔分流侧支的大小有关,和肝性脑病的严重程度没有确切的关系。目前认为出现在T1WI上高信号病灶的原因与锰含量的升高有关^[19]。但是在兔子脑部的常规磁共振扫描图像上并没有发现显著的异常信号,这可能由于形成T1WI高信号需要较长时间,所以在造模过程中并没有导致兔子脑部发生明显的异常信号改变,另外兔子脑部相对较小所以脑部很小的区域发生细微的信号变化也不明显。

3.3 磁共振波谱

本实验磁共振波谱采用单体素STEAM法,体素大小约为 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$,定位主要在兔的大脑,此处脑实质较多,脑脊液相对较少,对MRS的结果影响较小,同时感兴趣区应尽量避开颅骨。在国内外的研究中肝性脑病患者的典型改变为mI/Cr及Cho/Cr降低、Glx/Cr升高、NAA以及NAA/Cr变化不明显。在高血氨症时,脑内的氨在星形细胞的代谢下转化为谷氨酰胺和谷氨酸(Glx),使细胞渗透压升高,水份从细胞外间隙进入到细胞内,导致星形细胞水肿^[20]。为代偿升高的细胞渗透压,Cho,mI等作为渗透剂从细胞内滤除,从而降低渗透压,由此,典型的HE磁共振波谱反应了脑内细胞渗透压的改变。在本实验中肝性脑病组脑MRS显示Glx/Cr比值升高,Cho/Cr比值降低,mI/Cr未见显著改变。虽然与典型的MRS谱线相比mI/Cr的水平并没有显著的变化,但是作为主要反应脑内氨浓度的Glx/Cr比值出现了明显的升高,而且Cho/Cr比值的降低也基本反映了细胞内渗透压的变化,所以本实验的波谱结果也基本符合肝性脑病的典型代谢改变。从这个结果也大致能反应出肝性脑病兔子模型脑部氨的水平要高于对照组与肝硬化组兔子,与血氨的测量结果基本一致。

在本实验中,常规的MRI检查兔子脑部未发现显著的信号改变,而在MRS的检查中发现变化,也从一定程度上说明了MRS相对于常规的磁共振平扫的检查能更早的发现HE患者的脑部改变。至于在肝性脑病模型形成较长时间后,磁共振常

规扫描是否会产生典型的信号改变,这也是一个比较值得考虑及进一步研究的方向,这样可以确定是否MRS在更早的诊断肝性脑病方面存在优势。本实验只是对于慢性肝衰竭引起的肝性脑病模型的脑部MRS进行初步研究,在肝性脑病兔子模型中脑部的Glx复合物水平要比正常的兔子高。而本实验对于兔子脑部MRS的动态变化,血氨的动态变化,MRS的变化与血氨变化的对应程度等一些问题并没有很好的反应出来,有待于进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Blei AT, Cordoba J. Hepatic Encephalopathy [J]. Am J Gastroenterol, 2001, 96(7): 1968-1976
- [2] Bajaj JS. Minimal hepatic encephalopathy matters in daily life [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(23): 3609-3615
- [3] Bajaj JS, Corloba J, Mullen KD, et al. Review article: the design of clinical trials in hepatic encephalopathy--an International society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism (ISHEN) consensus statement [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2011, 33(7): 739-747
- [4] Dhiman RK, Saraswat VA, Sharma BK, et al. Minimal hepatic encephalopathy: consensus statement of a working part of the indian National Association for Study of the liver [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2010, 25(6): 1029-1041
- [5] Zhan T, Stremmel W. The diagnosis and treatment of minimal hepatic encephalopathy [J]. Dtsch Arztebl Int, 2012, 109(10): 180-187
- [6] Montgomery JY, Bajaj JS. Advances in the evaluation and management of minimal hepatic encephalopathy [J]. Curr Gastroenterol Rep, 2011, 13(1): 26-33
- [7] Montagnese S, Jackson C, Morgan MY. Spatio-temporal decomposition of the electroencephalogram in patients with cirrhosis [J]. J Hepatol, 2007, 46(3): 447-458
- [8] Mina A, Moran S, Ortiz-Olvera N, et al. Prevalence of minimal hepatic encephalopathy and quality of life in patients with decompensated cirrhosis [J]. J Hepatol Res, 2013, [Epub ahead of print]
- [9] Geissler A, Lock G, Fründ R, et al. Cerebral abnormalities in Patients with cirrhosis detected by proton magnetic resonance spectroscopy and magnetic resonance imaging [J]. Hepatology, 1997, 25(1): 48-54
- [10] Binesh N, Huda A, Bugbee M, et al. Adding another spectral dimension to ^1H magnetic resonance spectroscopy of hepatic encephalopathy [J]. J Magn Reson Imaging, 2005, 21(4): 398-405
- [11] Naegele T, Grodd W, Viebahn R, et al. MR imaging and ^1H -spectroscopy of brain metabolites in hepatic encephalopathy: time-course of renormalization after liver transplantation [J]. Radiology, 2000, 216(3): 683-691
- [12] Ciec ko-Michalska I, Dziedzic T, Banys R, et al. Dose magnetic resonance spectroscopy identify patients with minimal hepatic encephalopathy? [J]. Neurol Neurochir Pol, 2012, 46(5): 436-442
- [13] Rao KV, Norenberg MD. Cerebral energy metabolism in hepatic encephalopathy and hyperammonemia [J]. Metab Brain Dis, 2001, 16(1-2): 67-78
- [14] Haussinger D. Hepatic encephalopathy [J]. Acta Gastroenterol Bleg, 2010, 73(4): 457-464

- urokinase-type plasminogen activator system [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(15): 4648-4655
- [15] Kim KK, Lee JJ, Yang Y, et al. Macrophage inhibitory cytokine-1 activates AKT and ERK-1/2 via the transactivation of ErbB2 in human breast and gastric cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(4): 704-712
- [16] Chen SJ, Karan D, Johansson SL, et al. Prostate-derived factor as a paracrine and autocrine factor for the proliferation of androgen receptor-positive human prostate cancer cells [J]. *Prostate*, 2007, 67: 557-571
- [17] Zhang L, Yang X, Pan HY, et al. Expression of growth differentiation factor 15 is positively correlated with histopathological malignant grade and in vitro cell proliferation in oral squamous cell carcinoma [J]. *Oral Oncol*, 2009, 45: 627-632
- [18] Wollmann W, Goodman ML, Bhat-Nakshatri P, et al. The macrophage inhibitory cytokine integrates AKT/PKB and MAP kinase signaling pathways in breast cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26: 900-907
- [19] Karan D, Chen SJ, Johansson SL, et al. Dysregulated expression of MIC-1/PDF in human prostate tumor cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 305: 598-604
- [20] Zhao L, Lee BY, Brown DA, et al. Identification of candidate biomarkers of therapeutic response to docetaxel by proteomic profiling[J]. *Cancer Res*, 2009, 69: 7696-7703
- [21] Brown DA, Breit SN, Buring J, et al. Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: A nested case-control study[J]. *Lancet*, 2002, 359: 2159-2163
- [22] Huang CY, Beer TM, Higano CS, et al. Molecular alterations in prostate carcinomas that associate with in vivo exposure to chemotherapy: Identification of a cytoprotective mechanism involving growth differentiation factor 15 [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 5825-5833
- [23] Whiteside MA, Chen DT, Desmond RA, et al. A novel time-course cDNA microarray analysis method identifies genes associated with the development of cisplatin resistance[J]. *Oncogene*, 2004, 23: 744-752
- [24] Campbell RA, Bhat-Nakshatri P, Patel NM, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT-mediated activation of estrogen receptor alpha: A new model for anti-estrogen resistance[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276:9817-9824
- [25] Proutski I, Stevenson L, Allen WL, et al. Prostate-derived factor-A novel inhibitor of drug-induced cell death in colon cancer cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8: 2566-2574

(上接第 5636 页)

- [15] Eefsen M, Jenes P, Schmidt LE, et al. Brain expression of the water channels aquaporin-1 and -4 in mice with acute liver injury, hyperammonemia and brain edema[J]. *Metab Brain Dis*, 2010, 25(3): 315-323
- [16] Belanger M, Desjardins P, Chatauret N, et al. Selectively increased expression of the astrocytic/endothelial glucose transporter protein GLUT1 in acute liver failure[J]. *Glia*, 2006, 53(5): 557-562
- [17] Zwingmann C, Desjardins P, Hazell A, et al. Reduced expression of astrocytic glycine transporter(Glyt-1) in acute liver failure[J]. *Metab Brain Dis*, 2002, 17(4): 263-273
- [18] Rai V, Nath K, Sarawat VA, et al. Measurement of cytotoxic and interstitial components of cerebral edema in acute hepatic failure by diffusion tensor imaging[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2008, 28(2): 334-341
- [19] Spahr L, Butterworth RF, Fontaine S, et al. Increased blood manganese in cirrhotic patients relationship to pallidal magnetic resonance signal hyperintensity and neurological symptoms [J]. *Hepatology*, 1996, 24(5): 1116-1120
- [20] Rovira A, Cordoba J, Raguer N, et al. Magnetic resonance imaging measurement of brain edema in patients with liver disease: resolution after transplantation[J]. *Curr Opin Neurol*, 2002, 15(6): 731-737